Université Mohammed V-Agdal
Faculté des Sciences

Département de Biologie
Filière SVI – Semestre 4



Année Universitaire : 2009-2010

Module optionnel: Biologie Humaine (M 16.1)

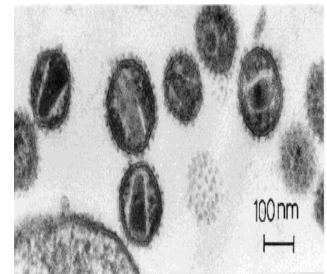
Elément : Parasitologie - Virologie

Enseignement de Virologie (part. 2)

Pr. Y. BAKRI

Plan du cours

Chapitre I : Virus et Immunité



A- Contraction et progression de l'infection virale

1- Voies d'entrée et sortie des virus

2- Tropisme cellulaire et tissulaire des Virus

3- Progression de l'infection virale

B- Immunité antivirale

1- Obstacles à l'entrée virale et la réplication précoce (Moyens de défense non spécifiques)

a- Mécanismes de défense précédant l'infection

(Inhibiteurs Non spécifiques, Phagocytose et activation des phagocytes, Cellules NK)

b- Mécanismes de défense induits par l'infection

(Fièvre, Inflammation, Interférence virale et Interféron)

2- Réponse immunitaire spécifique (Immunité adaptative)

(Immunité humorale, Immunité à médiation cellulaire)

Chapitre II : Virus et cancers

Chapitre III : Virus et traitements

A- Contraction et progression de l'infection virale

1- Voies d'entrée et sortie des virus

(1) infection des cellules au niveau :

Peau - muqueuse - Tractus génito-anal-Conjonctive.

(2) traverser la surface,

*** par traumatisme : injection, tatouage, piercing, (hépatite B et C, CMV, EBV, VIH)**

*** par morsure animal ou d'un insecte (togavirus, flavivirus, réovirus, bunyavirus)**

(3) transmission congénitale (des parents).

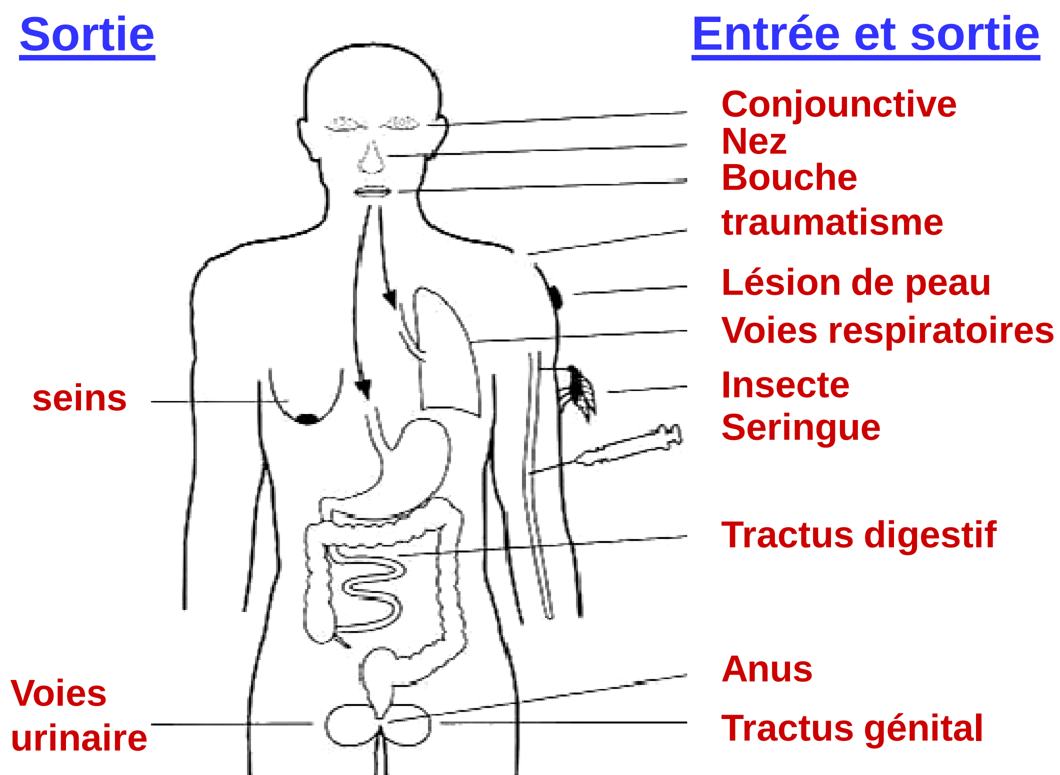


Figure 1. Surfaces du corps utilisées par les virus.

Tableau 1. Voies d'entrée de certains virus

Voie d'entrée	*Exemples de virus ou famille de virus*
PEAU **Brèche de la peau ou injection**	**Virus hépatite B et C, VIH, VHS, VEB, CMV**
Morsure d'insecte	**Réovirus (virus fièvre du Tic du colorado)**
Morsure d'animal	**Virus de la rage**
Voie Génitale	**Virus hépatite B et C, VIH, VHS, Pappillomavirus**
Voie respiratoire	**Virus de l'influenza**
Tractus digestif **Orale**	**EBV, CMV, VHS**
Voie intestinale	**Adénovirus, Enterovirus,** **Virus hépatite A, virus de poliomyélite**
Voie Oculaire	**VHS, Virus de la vaccine**
Excrétion dans les urines	**CMV Virus de l'hépatite B, rubéole.**

2- Tropisme cellulaire et tissulaire des Virus

C'est leur affinité pour des cellules ou tissus spécifiques

Neurotropes : **poliovirus**

Mucotropes : **tractus respiratoire;**
Rhinovirus adaptés aux faibles T° et PH,
fortes tensions d'oxygène (rougeole, grippe)

Enteroptropes : **Intestin, (résistent aux enzymes digestives, bile et l'acide)**

Hépatotropes : **(A, B, C, D, E)**

Adénotropes : **VEB (mononucléose infectieuse)**
tumeurs (carcinome du nasopharynx, lymphome B).

Epidermotropes : **Herpès : cellules épithéliales,**
HPV : cellules de la paroi utérine.

Récepteurs cellulaires :

virus rabique (rage) (récepteur d'acétylcholine des neurones
VHB (récepteur de l'albumine sur cellules du foie).
VEB (CD21 sur les lymphocytes B)
VIH (CD4 sur les lymphocytes T)

3- Progression de l’infection virale

Trois phases:

-période de latence, durée variable

l'acide nucléique viral est incorporé dans la cellule sans lésion morphologique visible.

- période de stimulation,

*** Augmentation du métabolisme cellulaire (synthèses d'ADN et protéines)**

*** Propagation virale**

et/ou

*** Développement de tumeurs**

HPV : cancer du col utérin

EBV : carcinome naso-pharyngien

VIH : Sarcome de Kaposi

- effet cytopathogène

lésions dont la forme et le siège sont évocateurs du diagnostic (herpès).

B- Immunité antivirale

1- Obstacles à l'entrée virale et la réplication précoce

(Moyens de défense non spécifiques)

a- Mécanismes de défense précédant l'infection

- Barrières Anatomiques

À la surface de l'organisme,

*** Epiderme (pas de récepteurs sur cellules kératinisées résistent à la pénétration des virus sauf cas de lésion)**

morsure animale: virus rabique
piqûre d'insecte: togaviruses

***Surfaces muqueuses (le mucus piège les virus et les éliminent en les excrétant)**

À l'intérieur de l'organisme,

barrières formées par les cellules endothéliales

(ex : barrière hémato-meningée,
placentaire
pulmonaire).

- Inhibiteurs Non spécifiques

Plusieurs inhibiteurs viraux dans fluides corporels et tissus.

(lipides, polysaccharides, protéines, lipoprotéines glycoprotéines).

+ Inhibiteurs bloquant le récepteur du virus sur la cellule

+ Inhibiteurs de l'attachement du virus aux cellules

+ Inhibiteurs éliminant le virus :

*** Défensines : peptides anti-microbiens de 30 à 50 aa (cellules épithéliales et neutrophiles)**

Ex: défensines cationiques → pores dans membranes des virus enveloppés.

+ Inhibiteurs de la réplication virale :

*** Le domaine nucléaire 10 (ND10) :**
complexe de protéines qui bloquent la réplication du génome viral dans la cellule

+ Inactivation des virus :

*** L'acide, la bile, et les enzymes du tractus gastro-intestinal inactivent plusieurs virus**

- Phagocytose

*** Les macrophages et les granulocytes réduisent la virémie en éliminant les virus par phagocytose.**

*** Certains virus sont phagocytés mais peuvent ne pas être inactivés (VIH dans les macrophages; CMV dans les granulocytes)**

Les macrophages sont plus efficaces contre les virus que les granulocytes.

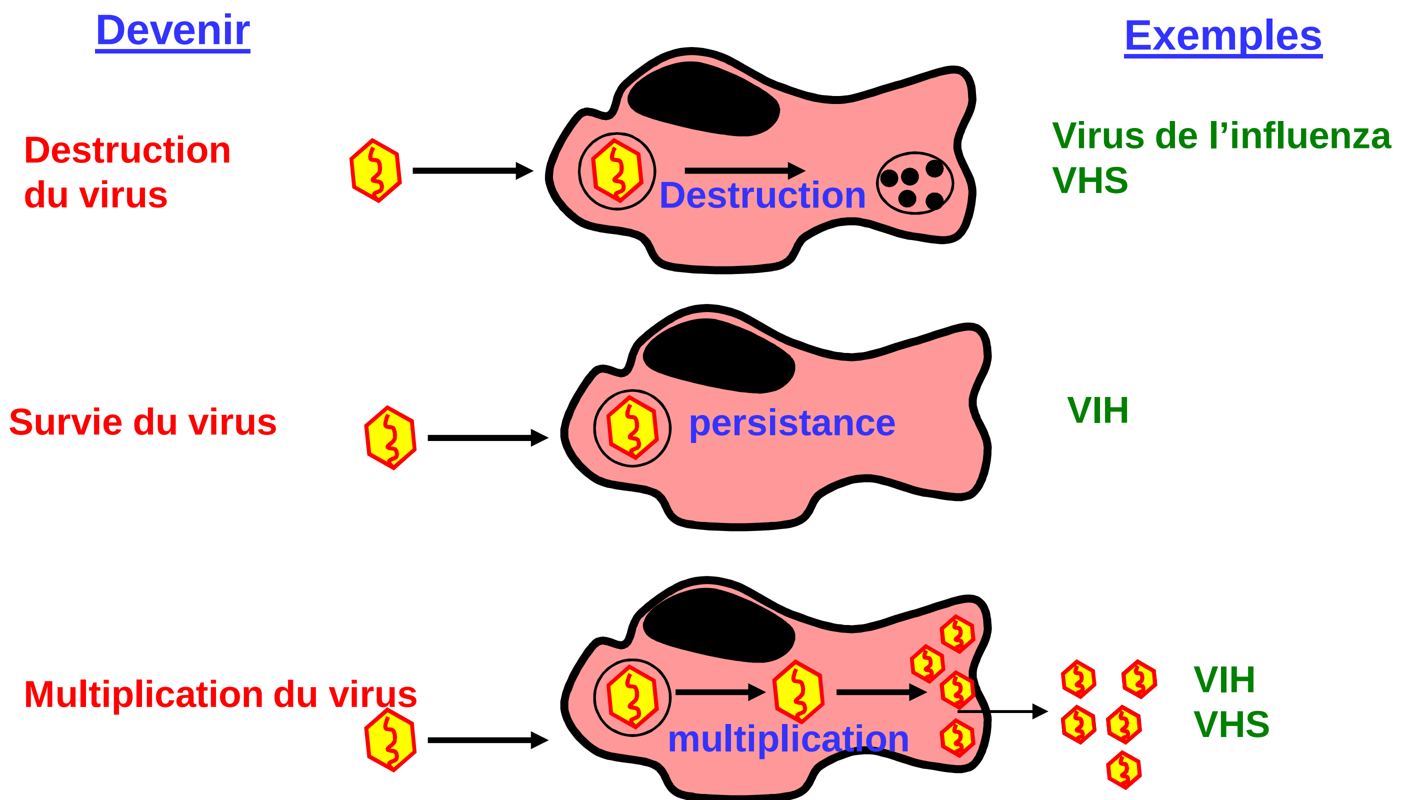


Figure 2. Scénarios possibles après phagocytose de virus.

b- Mécanismes de défense induits par l'infection

- Fièvre

*Induite durant l'infection virale par les pyrogènes :

IL-1, IL-6, interférons, prostaglandine E2, TNF

* simple augmentation de 37℃ à 38℃ peut induire une inhibition importante de la réplication virale.

« les virus qui répliquent le mieux au cours de la fièvre sont souvent les plus virulents »

* la fièvre augmente aussi la génération de LT cytotoxiques.

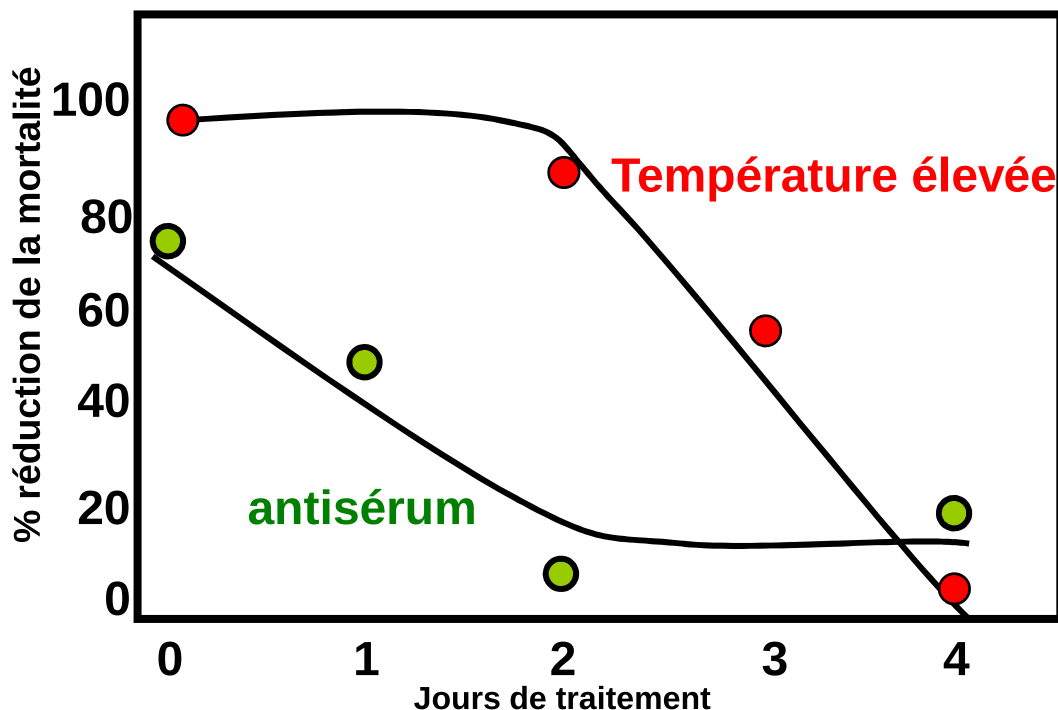
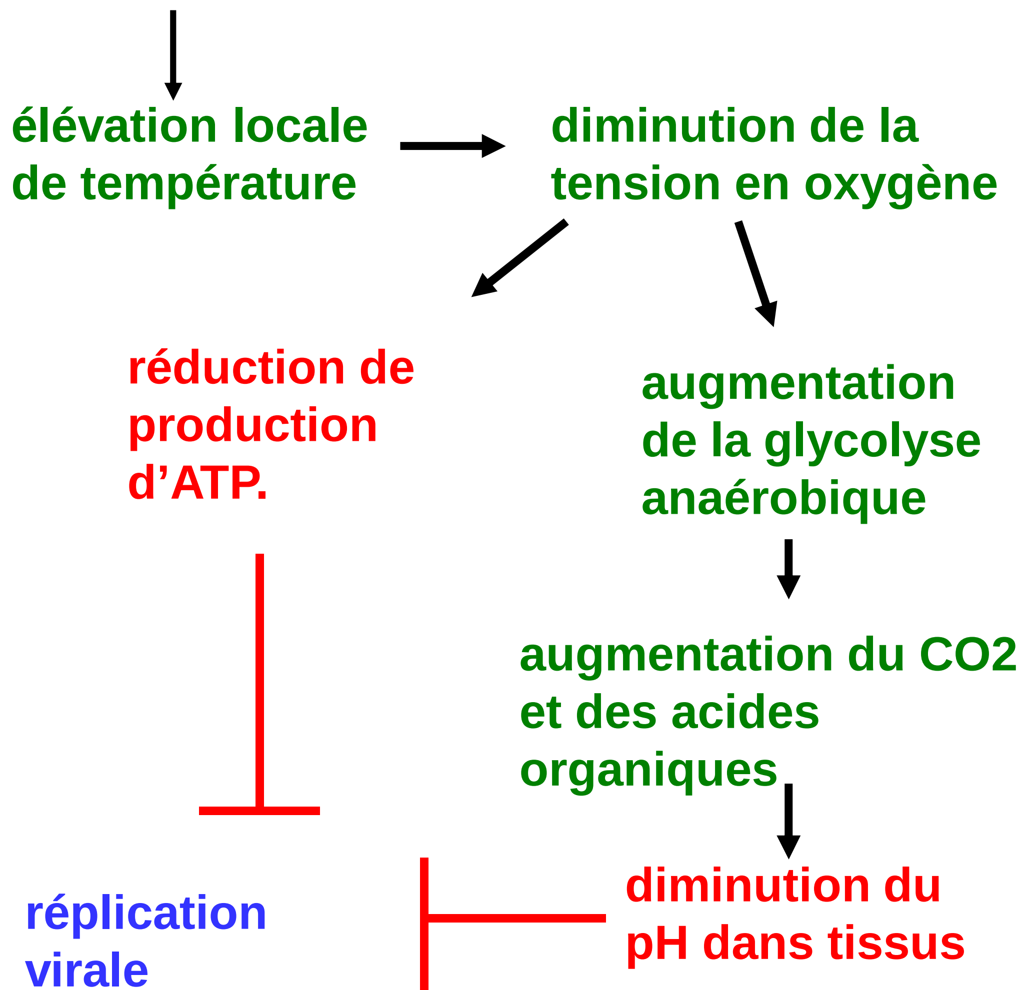


Figure 3. Protection de souris par élévation de la température 38° C et un antisérum administré avant et après infection intracerebrale par un picornavirus.

- Inflammation

Les composantes majeures du processus inflammatoire :
altérations circulatoires, œdème et
l'accumulation des leucocytes et des prostaglandines



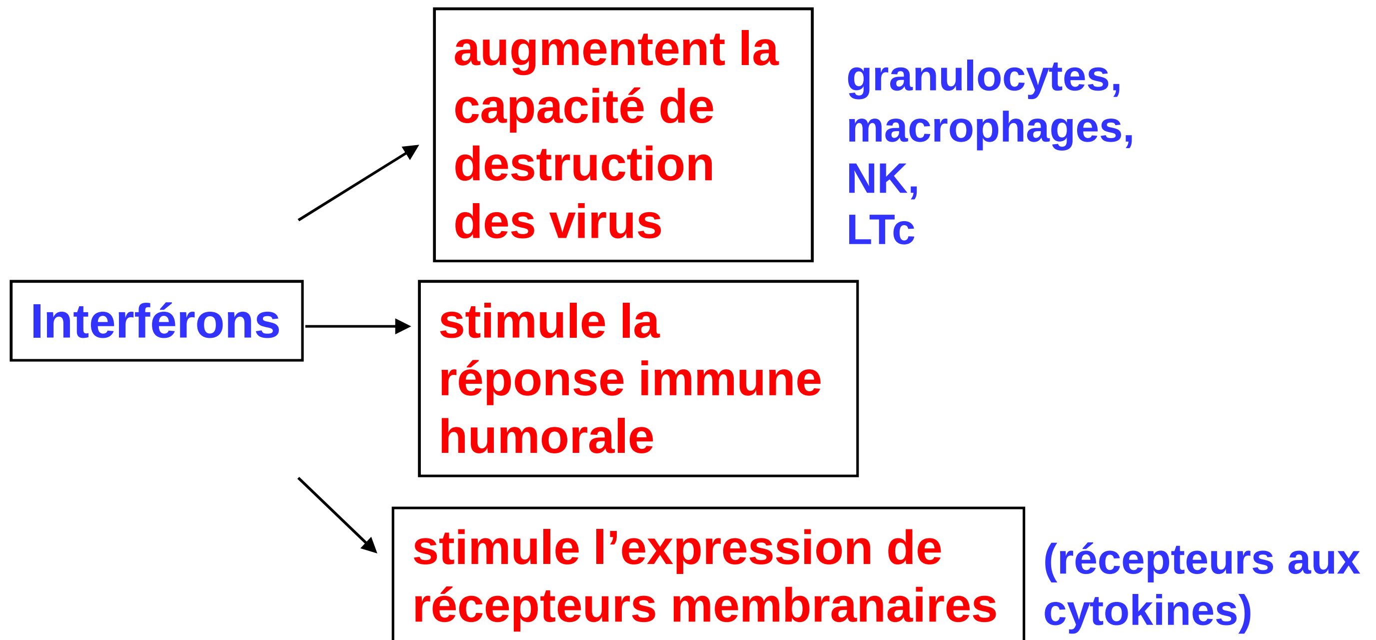
- Interférence virale et Interféron

Interférence virale

l'infection par un virus rend les cellules hôtes résistantes à d'autres virus. (compétition pour :
récepteur cellulaire ou
contrôle de la machinerie biosynthétique

Interférons

Cytokines qui réagissent avec les cellules non infectées et les rend résistantes à l'infection.



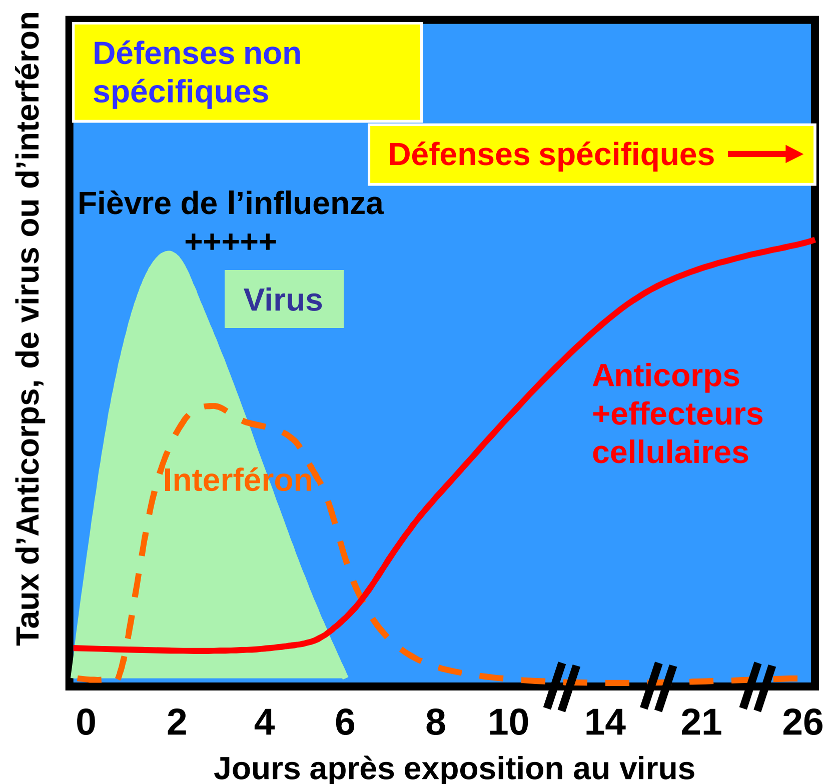


Figure 4. Production de virus, d'interféron et d'anticorps durant l'infection par le virus de l'influenza chez l'Homme.

** Types d'interférons produits*

Trois types (alpha, bêta, et gamma) de PM de 16 à 45 kDa.

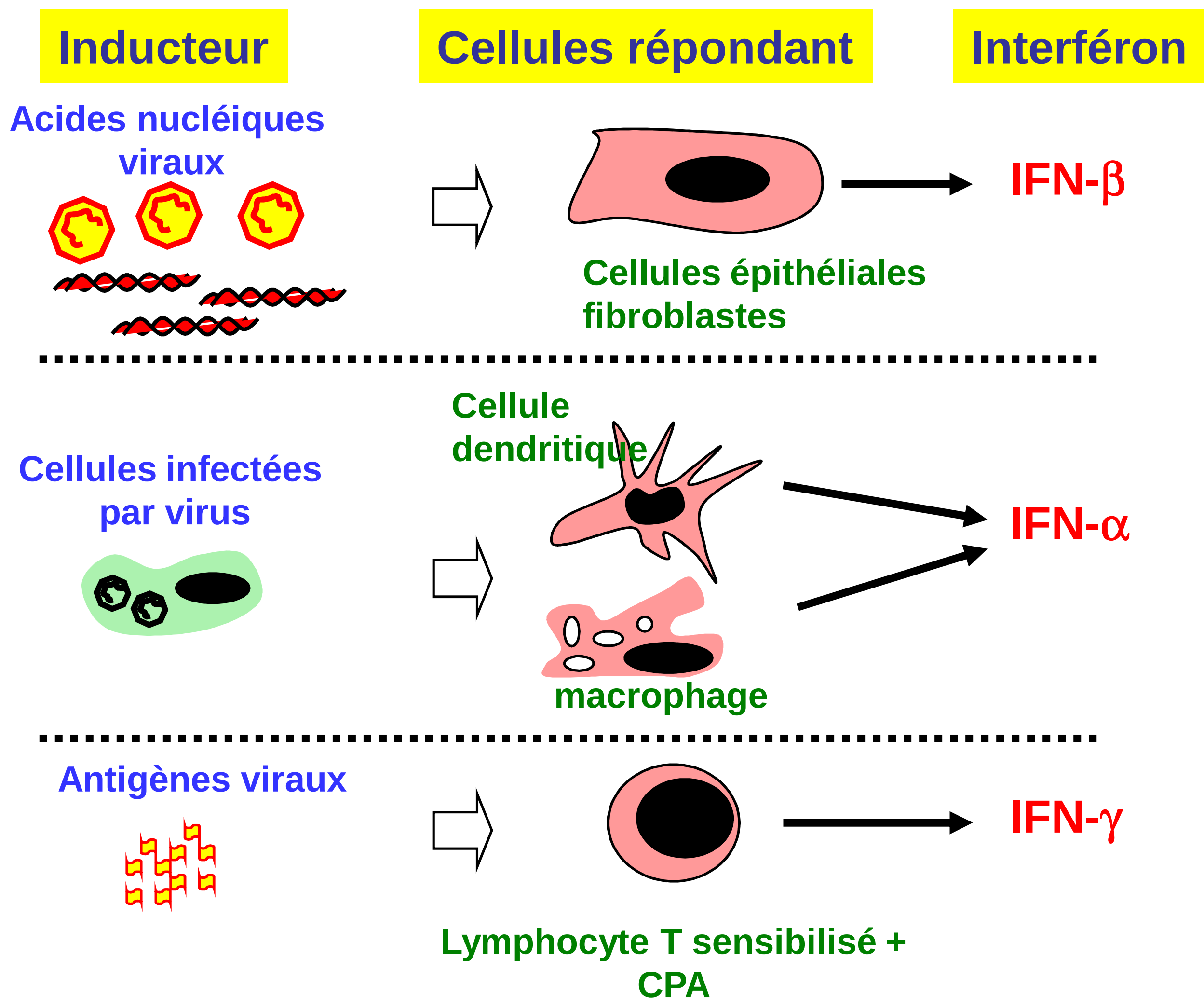


Figure 5. Induction de la production des 3 types d'interférons.

Le système d'interféron est non spécifique car :

(1) différents virus peuvent induire le même type d'interféron.

(2) le même type d'interféron peut inhiber différents virus.

** Mécanismes d'action*

L'interféron n'inactive pas directement les virus. Il prévient la réplication virale dans les cellules de l'entourage en interagissant avec des récepteurs spécifiques à leurs surfaces pour induire l'expression des gènes cellulaires qui codent pour les protéines anti-virales

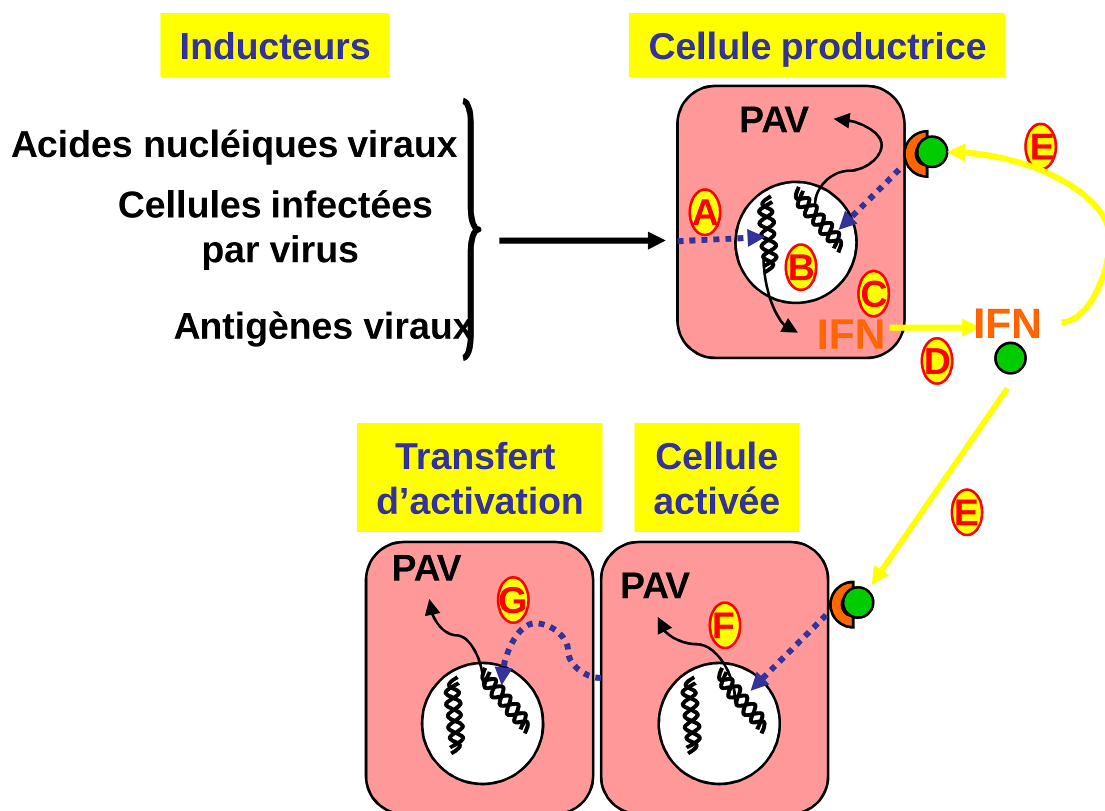


Figure 6. Induction, production et action de l'interféron

(A) Les agents inducteurs induisent l'interféron.
(B) Production d'ARNm de l'interferon .
(C) l'ARNm est traduit en protéine.
(D) l'IFN est secreté dans le milieu extracellulaire
(E) l'IFN réagit avec les récepteurs cellulaire.
(F) l'IFN induit l'expression de protéine antivirale (PAV).
(G) Les cellules activées stimulent les cellules à leur contact à produire la PAV.

Les PAV inhibent le cycle viral à différents niveaux

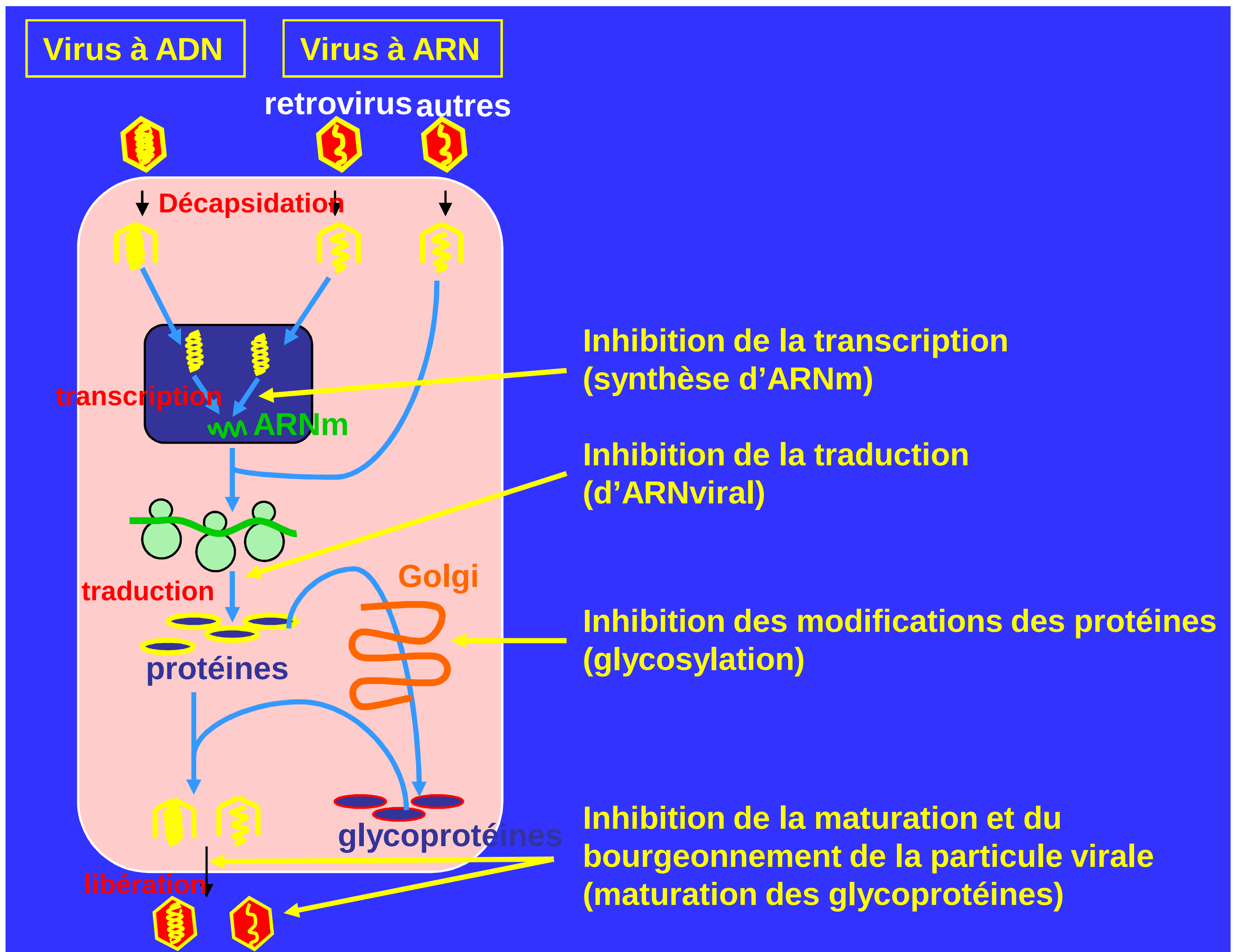
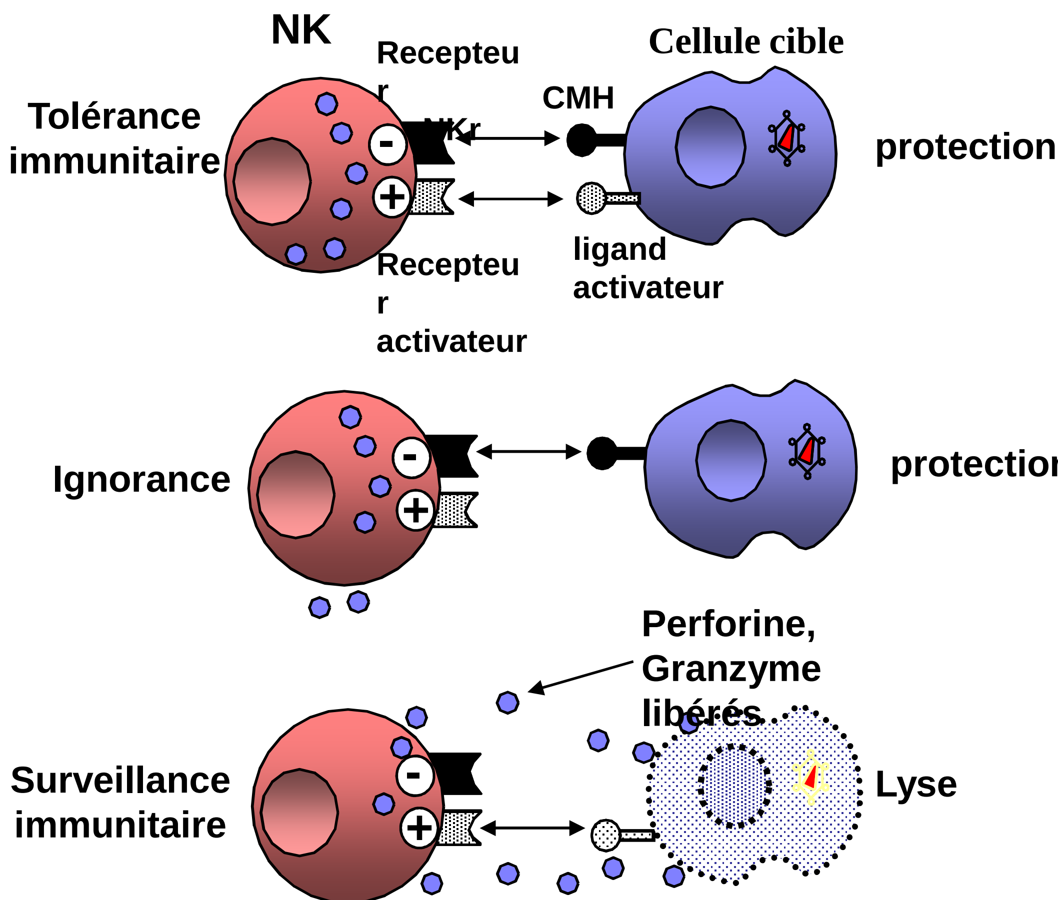


Figure 7. Mécanismes antiviraux de l'interféron

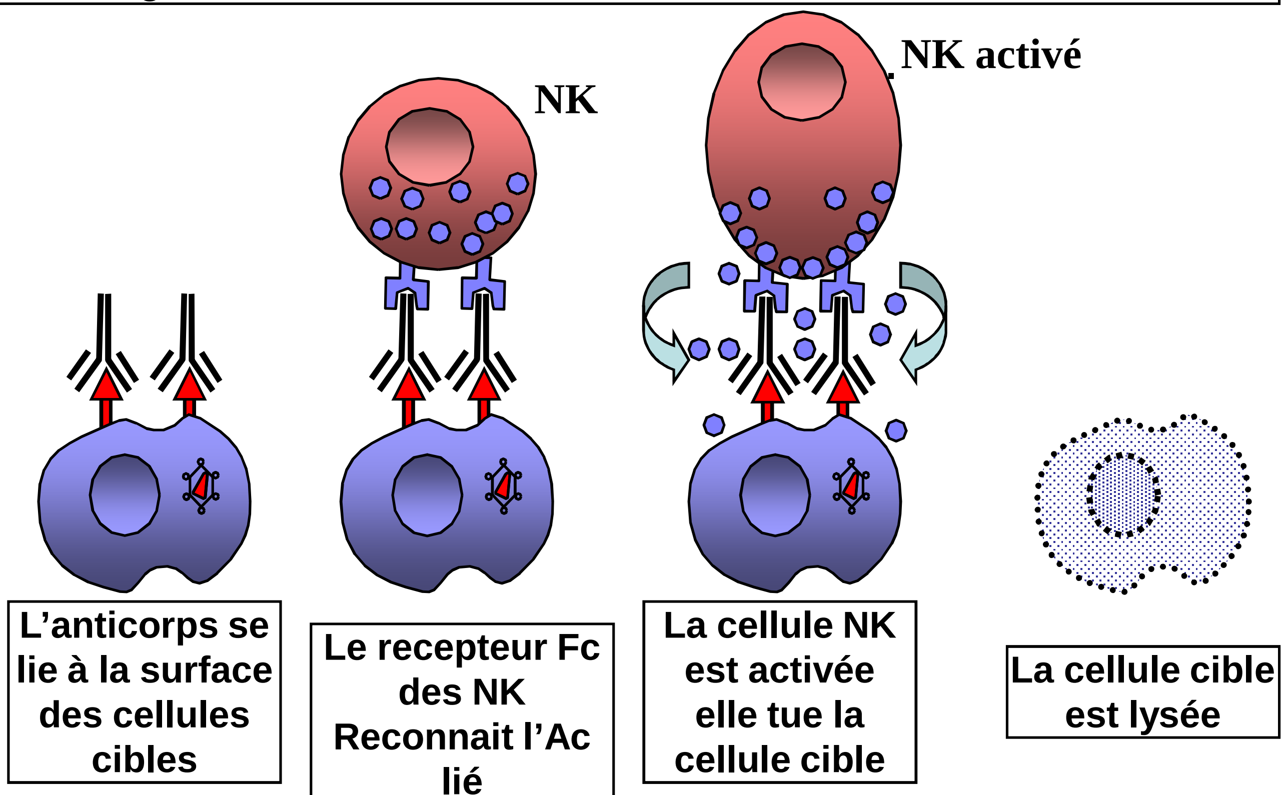
- Cellules NK :

Les NK reconnaissent non spécifiquement des cellules infectées et les lysent, leur activité cytotoxique non spécifique est augmentées par l'IFN-γ et l'IL-2 secrétés par les LT.
Les NK peuvent produire l'interféron lorsqu'elles sont stimulées par le virus ou par les cellules infectées.



Les cellules NK reconnaissent des récepteurs à la surface des cellules infectées.
Ces cellules ont en général une expression réduite du CMH

Les cellules NK tuent aussi les cellules infectées par ADCC parcequ'elles expriment les recepteurs au fragment constant des immunoglobulines.



2- Réponse immunitaire spécifique (Immunité adaptative)

Les réponses immunes anti-virales sont multiples

Défense de l'hôte	Temps d'apparition	effecteurs	Cibles
Réponses non spécifiques	Heures	Fièvre Phagocytose Inflammation Activité NK Interféron	Réplication virale Virus Réplication virale Cellules infectées Réplication virale
Immunité à médiation cellulaire	Quelques jours	LTcytotoxiques Macrophages activés Cytokines	Cellules infectées Virus, Cellules infectées Cellules infectées+ immunomodulation
Réponse humorale	Quelques jours	ADCC AC AC + Complément	Cellules infectées Virus, Cellules infectées Virus, Cellules infectées

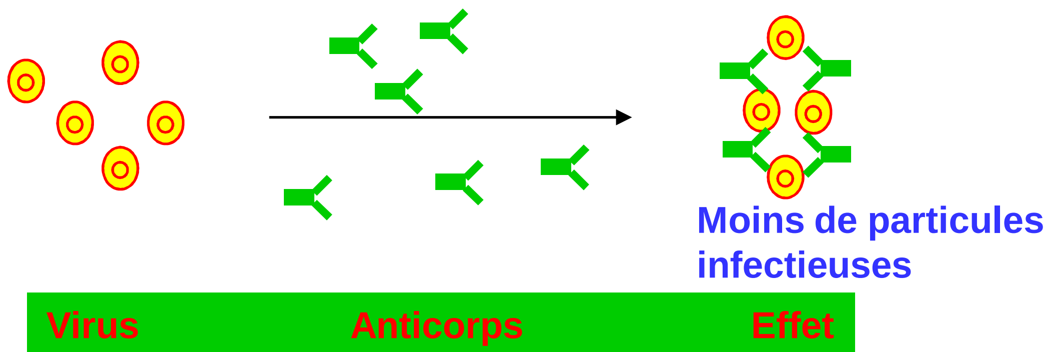
Immunité humorale:

- Lymphocytes B

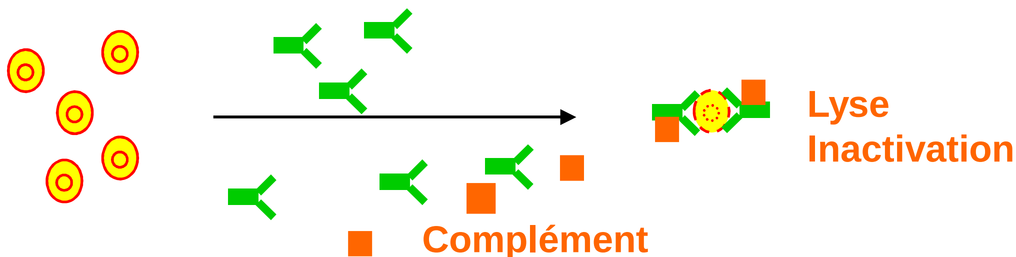
* Réactions médiée par les anticorps

+ *Neutralisation de l'infection virale :*

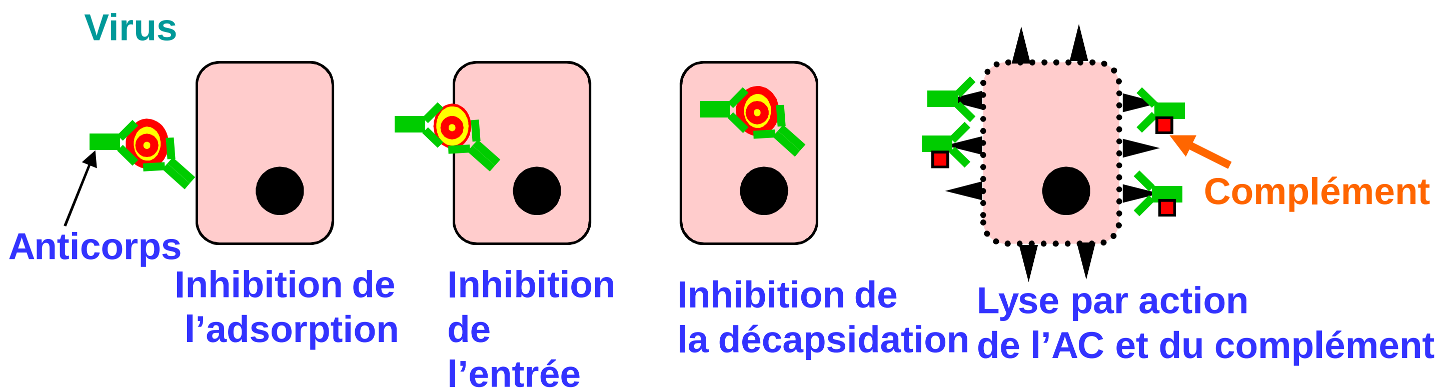
1- Neutralisation des particules virales par agrégation



2- Neutralisation des particules virales amplifiée par le complément



3- Neutralisation de l'infection des cellules par le virus



- Immunité à médiation cellulaire

- **Lymphocytes T**

Les plus importants sont les LT cytotoxiques qui éliminent les cellules infectées ou transformées par des virus.

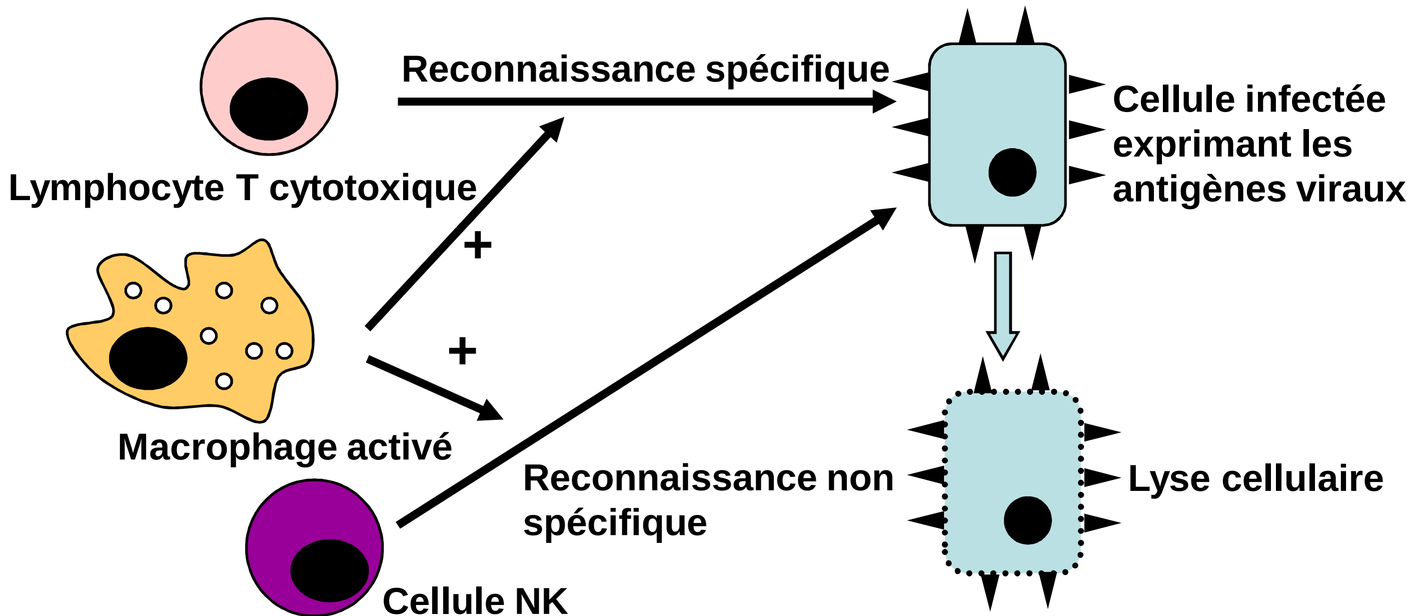


Figure 11. Lyse des cellules infectées par les effecteurs cytotoxiques.

Université Mohammed V-Agdal
Faculté des Sciences

Département de Biologie
Filière SVI – Semestre 4



Année Universitaire : 2007-2008

Module optionnel: **Biologie Humaine (M 16.1)**

Elément : Parasitologie - Virologie

Enseignement de Virologie (part. 2)

Pr. Y. BAKRI

Plan du cours

II- Virus et cancer

A- Pouvoir oncogène et pouvoir transformant d'un virus

B- Interaction du génome viral et du génome cellulaire

(Persistance du génome viral – Conformation du génome viral- Gènes viraux transformants)

C- Mécanismes généraux de la prolifération cellulaire normale et tumorale

(Prolifération cellulaire normale - Processus tumoral- Comment interviennent ces oncogènes et anti-oncogènes)

D- Les virus oncogènes

(Virus à ARN - Virus à ADN)

Le cancer découle d'un dérèglement du programme génétique de la cellule.

Au niveau de certains gènes intervenant dans la multiplication cellulaire (mutations).

Il y'a : * prolifération cellulaire irréversible
*** dissémination métastatique**

On distingue des cancers induits par :

- **Agents physiques (rayons UV, rayons X, radioactivité),**

- **Agents chimiques (goudrons),**

- **virus**

A- Pouvoir oncogène et pouvoir transformant d’un virus

1- Pouvoir oncogène (oncos = tumeur)

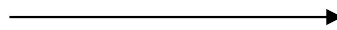
Capacité d’un virus à induire la formation de tumeur de <u>manière reproductible</u>

= virus oncogènes

Premier virus oncogène découvert en 1911 par Dr. Rous, (virus du sarcome de Rous : RSV).

<u>expérience</u>

prélèvement de tumeur chez un poulet



broyage



filtrat



inoculation du filtrat à un autre poulet



apparition de tumeur chez l’animal sein

filtrat contient un virus oncogène

2- Pouvoir transformant

Les virus oncogènes indisnt l'apparition des propriétés des cellules cancéreuses
= transformation cellulaire

Caractérisée par :

A -perte de l'inhibition de contact

B - modification de la surface cellulaire

-perte de certains récepteurs d'hormones

- présence de néoantigènes

C - caractéristiques biochimiques

- augmentation de la synthèse de protéases

- désorganisation du cytosquelette

- dérépression de la synthèse de protéines fœtales

D - autres caractéristiques

- apparition d'anomalies chromosomiques
- absence de vieillissement.

Les virus oncogènes transforment les cellules non permissives = incapables de répliquer complètement le virus

(exemple : les cellules d'une espèce différente de l'hôte normal).

Dans ces cellules l'infection est limitée aux premières étapes de la réplication virale (réplication dite abortive).

B- Interaction du génome viral et du génome cellulaire

Que devient le virus oncogène une fois dans la cellule?

Y'a-t il persistance des protéines virales?

Y'a-t il persistance des acides nucléiques viraux ?

Le virus induit-il une modification permanente d'un gène cellulaire sans rester dans la cellules ?

Certains virus Herpès peuvent avoir comme cible des séquences cellulaires préexistantes et potentiellement oncogènes, ces virus peuvent induire leur expression qui est normalement réprimée (dérepression).

Le mécanisme de persistance du génome viral est le plus fréquent.

1- Persistance du génome viral

Le génome viral persiste t-il en partie ?

Persistance du génome viral en totalité :

Ex : Lignées transformées par des rétrovirus (HTLV)

*** les cellules peuvent produire des particules virales infectieuses.**

Persistance partielle du génome viral :

Ex : le cas des adénovirus.

*** Cellules transformées ne produisent pas de virus.**

*** Cellules ont gardé un fragment du génome viral contenant l'information transformante.**

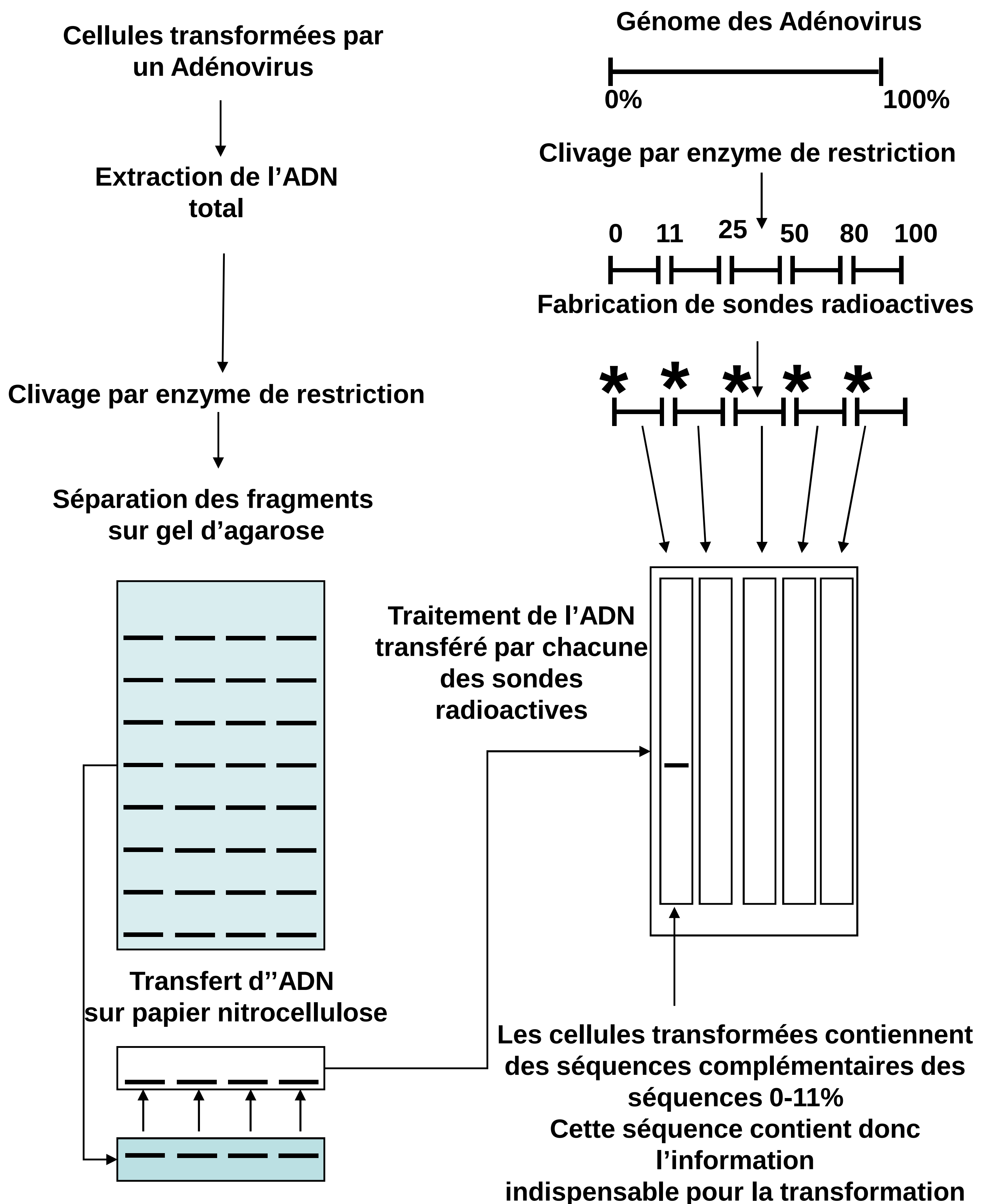


Figure 1 : Principe de la mise en évidence par hybridation moléculaire des séquences virales au sein des cellules transformées

2- Conformation du génome viral

*** Sous forme intégrée au génome cellulaire**

L’ADN du SV40 (virus simien 40)

*** Libre sous forme d’épisome (extrachromosomique).**

- **L’ADN du virus Epstein-Barr non intégré au génome des lymphocytes B.**

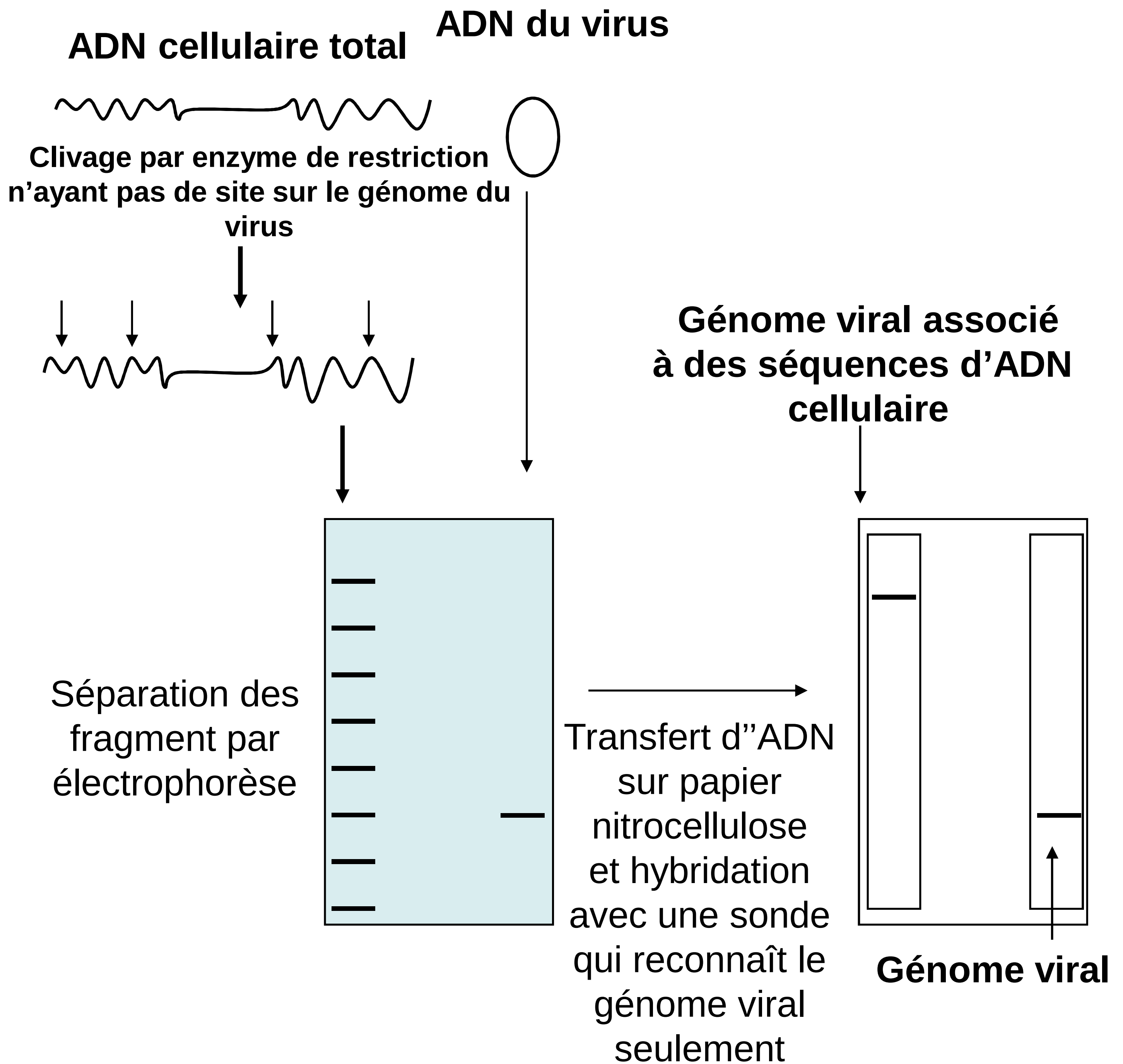
La plus part des virus oncogènes

s’intègrent dans des séquences

d’ADN cellulaire différentes

--→ Au niveau des régions actives du

génome



<u>Figure 2 :</u> Principe de la mise en évidence par hybridation moléculaire d’un génome viral intégré à l’ADN cellulaire

3- Gènes viraux transformants

Gènes viraux multiples :

Le fragment transformant des Adénovirus se trouve dans la région 0-11 = région appelée E1 fonctions précoces dans le cycle viral (E = early).

2 unités de transcription E1a et E1b.

Transformation partielle (ou immortalisation).

Cellules transformées par E1a se divisent indéfiniment mais respectent l'inhibition de contact.

transformation est complète.

Lorsqu'on transforme avec E1a et E1b

Gène viral unique :

Un seul gène suffit pour transformer les cellules.

Ex : gène sarc (sarcome) dans le cas du RSV.

C- Mécanismes généraux de la prolifération cellulaire normale et tumorale

La dissection moléculaire du génome viral



petit bout génique qui n’a aucun intérêt pour le virus et présente une analogie de séquence avec les gènes de prolifération cellulaire.

Les gènes de prolifération cellulaire sont les cibles de mutations oncogéniques.

Quand un virus infecte une cellule il y’aura une réactivation de l’action de ces gènes.

1- Prolifération cellulaire

Deux catégories de gènes entrent en jeux :

*** Proto-oncogènes :**

gènes de prolifération normaux.

*** anti-oncogènes :**

gènes suppresseurs de la tumeur.

C’est des gènes normaux qui s’opposent aux proto-oncogènes.

2- Processus tumoral

•Altération des proto-oncogènes :

•Aboutit à la production d'oncogènes actifs.

•Altération des anti-oncogènes :

•Aboutit à la production de molécules inhibant l'expression ou la fonction des anti-oncogènes

3- Comment interviennent ces oncogènes et anti-oncogènes

a- mécanisme des oncogènes

Sont soit des facteurs modifiés soit des récepteurs de facteurs modifiés. Ils interviennent dans la transduction du signal intracellulaire.

+ facteurs de croissance

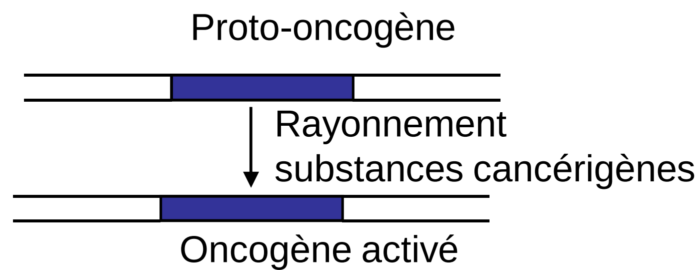
+ récepteurs des facteurs de croissance

+ protéines tyrosines kinases

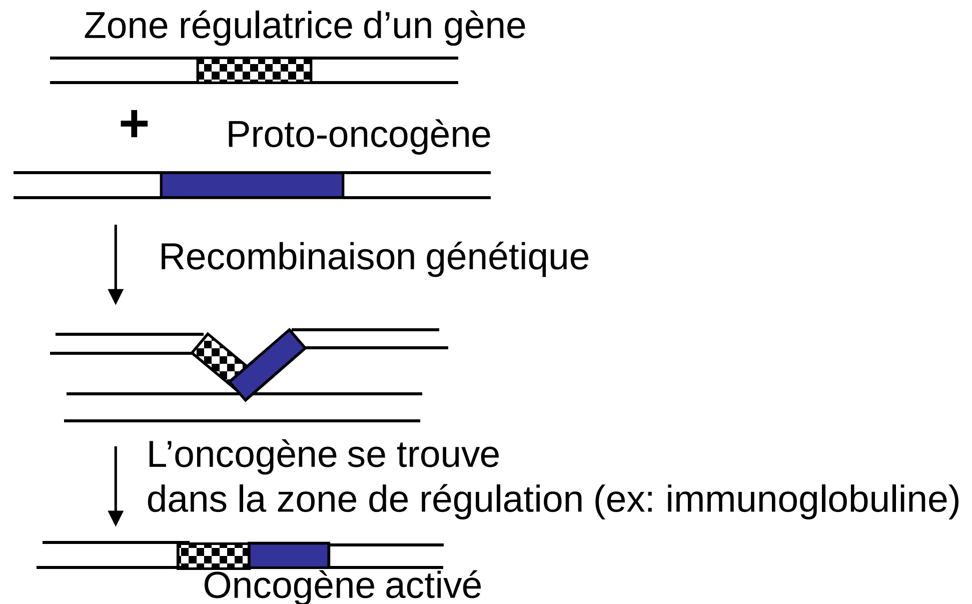
+ protéines impliquées dans l'apoptose (mort programmées des cellules)

Les proto-oncogènes se transforment en oncogènes par différents mécanismes

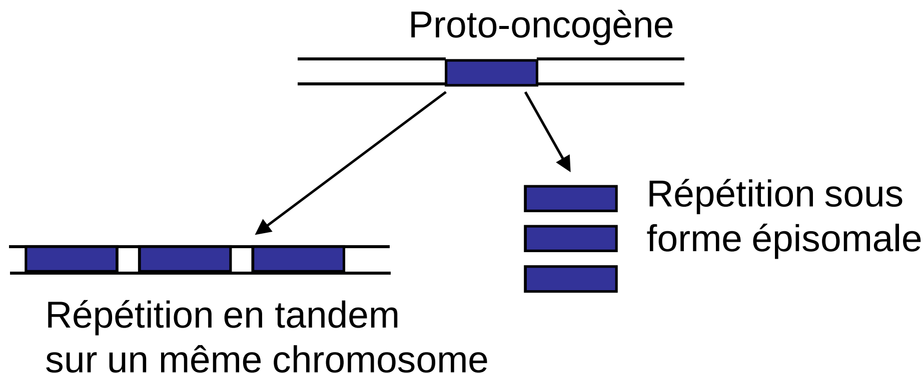
1- Mutation ponctuelle



2- Réarrangement chromosomique



3- Amplification de gène



4- Rétrovirus

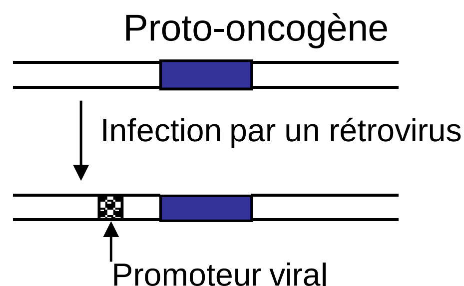


Figure 3 : Mécanismes d'activation d'un proto-oncogène

b- mécanisme des anti-oncogènes

Ce sont des gènes suppresseurs des tumeurs en freinant la prolifération cellulaire. Souvent noté dans les cancers hériditaires

Deux exemples sont intéressants :

Le rétinoblastome hériditaire : une délétion dans le gène Rb sur le chromosome 13.

Le gène P53 : intervenant dans le blocage de la synthèse d'ADN.

C'est une délétion dans le gène ou dans les gènes qui contrôlent son expression.

D- Les virus oncogènes

Les critères biologiques de l'association virus et tumeur sont :

*** la présence de virus dans les tissus tumoraux**

*** la présence du virus avant le développement de la maladie**

*** la persistence du virus**

*** la prévention du développement de la tumeur par prévention de l'infection virale.**

*** localisation des virus dans des tissus appropriés (notion de tissus cible)**

Il existe 2 catégories de virus.

1- Virus à ARN

Les rétrovirus oncogéniques (oncoretrovirus)

ont des gènes viraux (*v-onc*) acquis par

recombinaison avec gènes cellulaires (*c-onc*).

Les *v-onc* peuvent induire directement ou indirectement la transformation cellulaire.

Ces types de virus induisent des tumeurs en agissant au niveau de :

*** facteurs de croissance.**

*** récepteurs cellulaires.**

*** protéines de signalisation.**

*** protéines se liant à l'ADN (facteurs de transcription).**

*** protéines de régulation.**

2- Virus à ADN

Les virus oncogènes à ADN incluent les virus de l'hépatite B, le virus de l'herpès et le pappillomavirus.

Les mécanismes possibles de transformation :

•Exemple du cas du virus de l'hépatite B,

son intégration peut se faire près d'un gène cellulaire responsable de la croissance cellulaire ou d'un gène de contrôle

Exemples d'autres mécanismes pour d'autres virus :

(1) répression de l'interféron bêta cellulaire

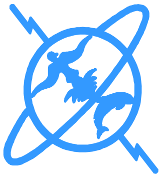
(2) intégration dans un gène de contrôle du cycle cellulaire

(3) intégration à côté d'un gène d'hormone

(4) délétion chromosomique d'anti-oncogène comme p53 par recombinaison.

Université Mohammed V-Agdal
Faculté des Sciences

Département de Biologie
Filière SVI – Semestre 4



Année Universitaire : 2004-2005

Module optionnel: **Biologie Humaine (M 16.1)**

Elément : Parasitologie - Virologie

Enseignement de Virologie (part. 2)

Pr. Y. BAKRI

Plan du cours

III. Virus et traitements

A- Immunoprophylaxie

1- La prophylaxie active (Vaccins)

(Vaccins à base de virus atténués- Vaccins à base de virus tués (inactivés) - Antigènes viraux)

2- Production de vaccins

3- La prophylaxie passive

B- Chimiothérapie antivirale

1- Quelles cibles ?

2- Agents antiviraux

C- Thérapie combinatoire

D- Exemples de molécules chimiothérapeutiques

E- Mécanismes d'action des molécules antivirales

F- Limitations des molécules antivirales

A- Immunoprophylaxie

- **vaccins**
- **préparations d'anticorps.**

1- La prophylaxie active (Vaccins)

Stimulation du système immun pour produire ses propres anticorps

<u>a- Vaccins à base de virus atténués :</u>

*** peuvent infecter et répliquer dans l'organisme sans causer de maladie.**



immunité à vie après une seule série d'immunisation

Risque!!!! ➔ Virus vivant (mutation)

Solutions/précautions

*** plusieurs tests chez animaux et beaucoup d'essais cliniques**

*** technologies de recombinaisons**

b- Vaccins à base de virus tués (inactivés) :

*** inactivés par procédés physiques ou chimiques**

OU

*** seulement des composants du virus.**

Inconvénient s!

Virus inactivés ne peuvent pas infecter



pas d’immunité à vie après une seule injection



Nécessité de rappels.

c- Antigènes viraux :

Stratégies d’ADN recombinants

Après identification des antigènes viraux induisant la production d’anticorps protecteurs.



clonage de ces gènes
(vaccin contre l’hépatite B)

2- Production de vaccins

Différentes générations de vaccins existent :

première génération : vaccins faits à partir de tissus d'animaux inoculés avec des virus
(ex : vaccin de la variole à partir de la peau de vache)

deuxième génération : produits issus d'inoculation d'embryons d'œufs de poulets
(ex : vaccin inactivé du virus de l'influenza)

troisième génération : vaccins produits par propagation dans cultures cellulaires
(ex : poliomyélite, rougeole, rubéole).

quatrième génération : vaccins dérivés d'ADN recombinant. l'hépatite B

malheureusement aucun vaccin efficace n'est développé pour VIH puisque différents paramètres sont à contrôler

3- La prophylaxie passive :

Immunité procurée par l'administration d'anticorps produits chez un autre hôte

recommandée dans les situations suivantes :

(a) l'individu est déjà exposé au virus

(b) aucun vaccin efficace n'existe

(c) Immunodéficience centrale

On distingue deux types d'immunoglobulines

Les immunoglobulines standards :

Mélange de plasma de milliers de donneurs et contiennent des anticorps contre plusieurs virus.

Les immunoglobulines spécifiques :

A partir de donneurs avec des hauts titres d'anticorps spécifiques d'un virus donné .

Produit	utilisation
Immunoglobulines standard (pool de 1000 sérums immuns)	Rougeole, prévention de l'hépatite A
Immunoglobulines humaines anti-rabiques ou anti-Hépatite B	Après exposition au virus (administré avec le vaccin)
Immunoglobuline anti-varicelle	Après exposition ou chez individus à haut risque
Immunoglobulines anti-cytomégalovirus	Immunisation passive chez les transplantés rénaux

Tableau 2 : Exemples de produits utilisés en immunisation passive et immunothérapie contre les maladies virales.

B- Chimiothérapie antivirale

1- Quelles cibles ?

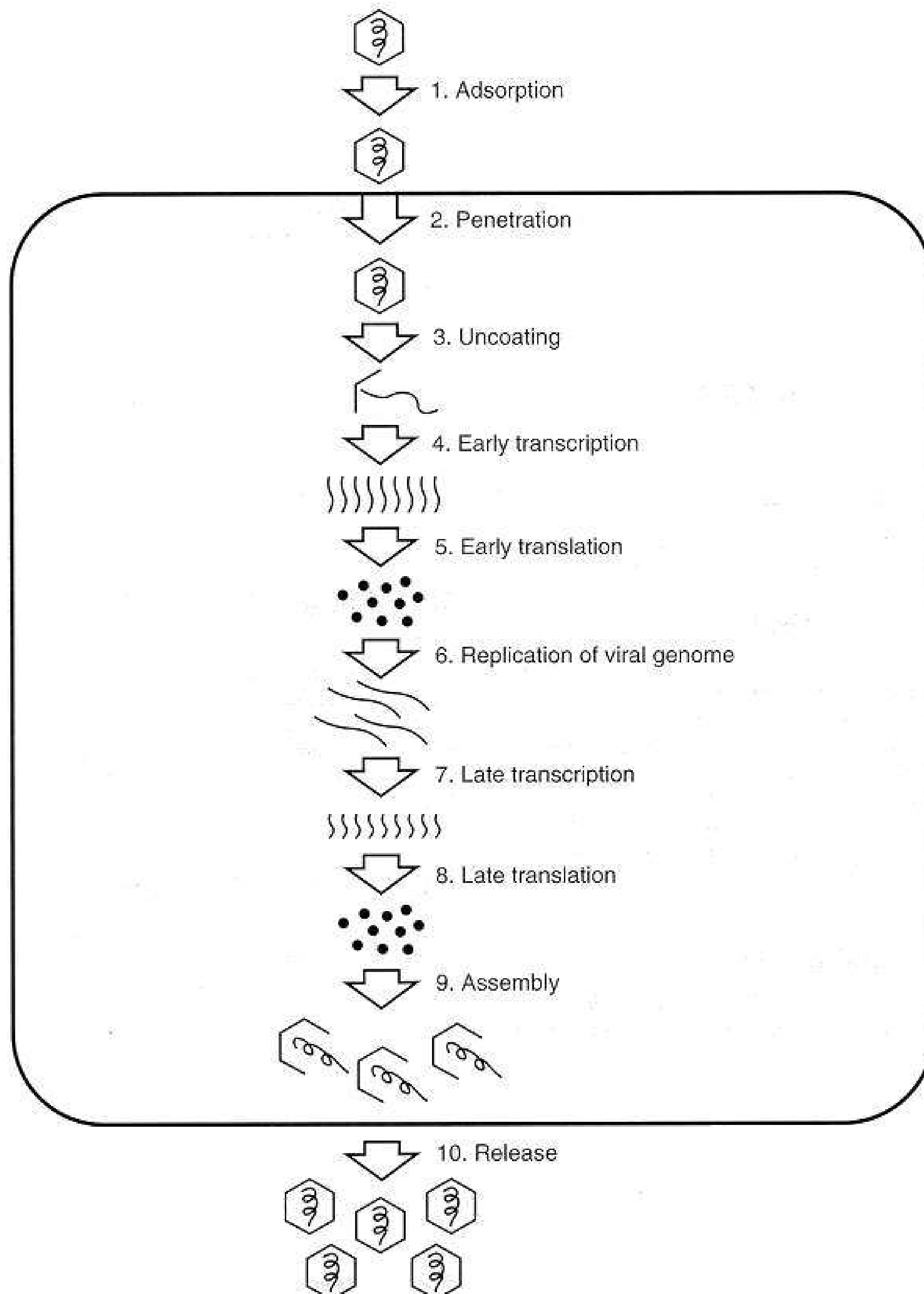


Figure 1. Cycle de réplication virale et niveau d'action des molécules antivirales.

Exemples d'étapes sécifiques de la réplication virale contrôlées par les enzymes virales :

+ La transcription inverse des ARN viraux

+ La réplication de l'ADN catalysée ADN polymérase

+ Le clivage des protéines virales précurseur (catalysé par protéases).

2- Agents antiviraux

Les agents chimiothérapeutiques doivent interférer avec des étapes spécifiques du cycle viral.

3 catégories

Les agents virucides : **inactivent directement les virus.**

peuvent être dangereux pour les tissus seins.

Les agents antiviraux : **inhibent la réplication virale par interruption d'étapes du cycle viral.**

Problème de toxicité
Problème d'émergence de virus résistants

Les immunomodulateurs:

Comme l'exemple de l'interféron

C- Thérapie combinatoire :

Utilisation de multiples molécules avec différents mécanismes d'action.

Ce type de thérapie est largement étudié dans le traitement du VIH, et utilisé dans le cas de l'hépatite C.

D- Molécules chimiothérapeutiques :

Nom	**Aciclovir**	**ribavirine**	**Idoxuridine**	**Ganciclovir**	**Azidothymidin (AZT)**
Formule					
Virus Cible	**VHS, Varicelle**	**RSV VHC**	**VHS**	**CMV**	**VIH**

Tableau 3

Tableau 4

Nom	Aciclovir	ribavirine	Idoxuridine	Ganciclovir	Azidothymidine (AZT)
Cible de la molécule	Blocage de terminaison de synthèse d'ADN viral	Blocage d'ARNm viral	Incorporation dans l'ADN. (Intercalant)	Inhibition d'ADN polymérase virale	Inhibition de reverse transcriptase virale
Virus Cible	VHS, Varicelle	RSV VHC	VHS	CMV	VIH

Toutes les molécules citées ici ont besoin d'être phosphorylées soit avec des enzymes cellulaires soit avec des enzymes virales ou les deux.

Acycloguanosine (ACG) ← Promédicament

Thymidine Kinase virale — Activateur

ACG monophosphate

Kinases cellulaires

ACG diphosphate

ACG triphosphate ← Produit actif

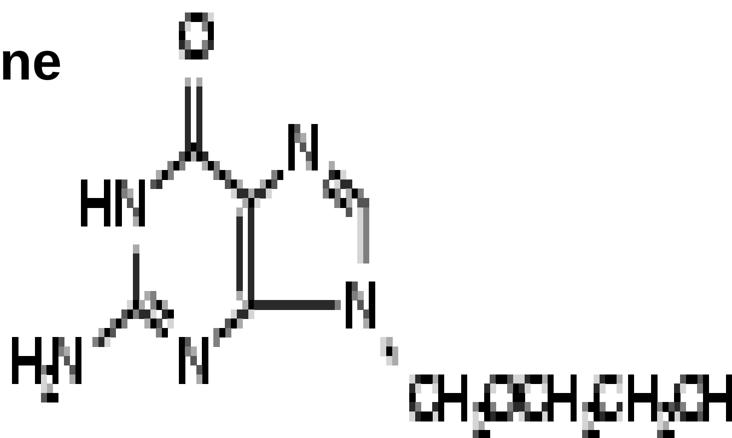
Inhibition de l'ADNpol Par incorporation de l'ACG dans l'ADN viral

ADN Polymérase virale ← Cible

Blocage de la synthèse de l'ADN viral — Effet

Figure-2 mode d'action de l'Aciclovir

Acycloguanosine ou Aciclovir



E- Limitations de l’utilisation des molécules antivirales :

Effet toxique

Phase latente du cycle viral

Efficacité limitée aux étapes précoces de l’infection

Emergence de souches virales résistantes